

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАДИОПРОТЕКТОРОВ С РАЗЛИЧНЫМИ МЕХАНИЗМАМИ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОТИВОЛУЧЕВОГО ЭФФЕКТА ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ

Иванченко А.В., Карамуллин М.А., Завирский А.В., Зацепин В.В.,

Башарин В.А., Толкач П.Г., Шилов Ю.В., Язенок А.В.

Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова

Резюме. В статье представлены результаты экспериментального исследования эффективности радиопротекторов с различными механизмами противолучевого действия, при комбинированном радиационно-химическом поражении, вызванном последовательным воздействием рентгеновского излучения и монооксида углерода. Показано, что препараты, радиозащитное действие которых реализуется формированием гипоксии в радиочувствительных тканях, не обладают защитным эффектом при таком варианте комбинированного поражения. Профилактическое введение Б-190 и нафазолина приводило к значимому снижению выживаемости лабораторных животных и более выраженному угнетению гемопоэза по тесту эндогенного колониеобразования. Профилактическое введение цистамина, как препарата, обеспечивающего противолучевой эффект через инактивацию свободных радикалов и прямую защиту ДНК, показало отчетливый защитный эффект при комбинированном радиационно-химическом поражении, выразившийся в увеличении доли выживших животных, в меньшей степени угнетения и в более раннем начале восстановления гемопоэза у белых мышей.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, облучение, интоксикация, угарный газ, комбинированное радиационное поражение, радиопротектор.

EFFICIENCY OF RADIOPROTECTORS WITH DIFFERENT MECHANISMS OF IMPLEMENTATION OF ANTI-RADIATION EFFECT IN COMBINED RADIATION-CHEMICAL INJURY

A.M. Ivanchenko, M.A. Karamullin., A.V. Zavirsky, V.V. Zatsepin, V.A. Basharin, P.G. Tolkach, Y.V. Shilov., Yazenok A.V.

S.M.Kirov Military Medical Academy

Abstract. In the article is presented the results of an experimental study of radioprotectors with various mechanisms of anti-radiation action in combined radiation-chemical injury caused by the sequential action of X-rays and carbon monoxide. It is shown that drugs, the protective effect of which is realized by the formation of hypoxia in radiosensitive tissues, do not have a protective effect with this type of combined injury. Prophylactic administration of B-190 and naphazoline led to a significant decrease in the survival rate of laboratory animals and a more

pronounced inhibition of hematopoiesis according to the endogenous colony formation test. Prophylactic administration of cystamine, as a drug that provides an antiradiation effect through inactivation of free radicals and direct protection of DNA, showed a distinct protective effect in combined radiation-chemical damage, expressed in an increase in the proportion of surviving animals, a lesser degree of suppression and an earlier onset of hematopoiesis recovery in white mice.

Key words: ionizing radiation, irradiation, intoxication, carbon monooxid, combined radiation injury, radioprotector.

Введение. Широкое использование источников ионизирующих излучений (ИИИ) практически по всех сферах деятельности человека стало неотъемлемым признаком современности. Вместе с тем, увеличение количества ИИИ неминуемо влечет рост вероятности возникновения нештатных ситуаций с ними. Так, только в РФ каждый год регистрируется от 150 до 240 случаев потери контроля над ИИИ [1]. Далеко не каждый из этих случаев приводил к облучению человека свыше установленных пределов доз, вместе с тем, почти все происшествия 4–7 категории по шкале INES происходили с возникновением пожаров. Облигатным токсикантом, образующимся в процессе горения, является монооксид углерода. В условиях радиационных аварий, сопровождающихся пожарами, весьма вероятно комбинированное воздействие ионизирующих излучений и продуктов горения на лиц, привлекаемых к ликвидации как самих аварий, так и их последствий. В случаях одномоментного или последовательного влияния факторов радиационной и химической природы возможно возникновение комбинированных радиационно-химических поражений [2].

В системе медицинской противорадиационной защиты один из важнейших элементов по сохранению жизни и здоровья людей – профилактическое применение радиопротекторов (препаратов, кратковременно повышающих устойчивость организма к действию ионизирующих излучений). Наряду с хорошо исследованными радиопротекторами Б-190 и цистамином, интерес представляет и препарат нафазолин [3].

Таким образом, целью настоящего исследования стала сравнительная оценка эффективности профилактического применения радиопротекторов с различными механизмами реализации противолучевого эффекта в условиях комбинированного воздействия ионизирующего излучения и монооксида углерода.

Материалы и методы.

Экспериментальное исследование проводили на белых беспородных мышах-самцах массой 18–22 г, разведения питомника лабораторных животных Рапполово Ленинградской области.

Комбинированное радиационно-химическое поражение (КРХП) моделировали путем последовательного воздействия на мышей рентгеновского облучения в диапазоне доз $LD_{30-90/30}$ и монооксида углерода в концентрации 0,5 LC_{50} . Внешнее однократное облучение проводили на рентгентерапевтической установке РУМ-17 при следующих условиях: напряжение 180 кВ, сила тока 10 мА, фильтр 0,5 мм Cu+1,0 мм Al, направление облучения спина–грудь, кожно-фокусное расстояние 50 см, мощность дозы 0,32 Гр/мин (32,8 Р/мин). Дозы облучения составляли 6,5, 7,5 и 8,0 Гр, что соответствует диапазону $LD_{30-90/30}$ для белых беспородных мышей. Непосредственно после облучения животных помещали в герметичную камеру объемом 0,1 м³, где они подвергались ингаляционному воздействию монооксида углерода, полученного химическим путем, в течение 30 мин. Концентрация токсиканта составляла 2100 ppm (0,5 LC_{50}). Оценивали 30-суточную выживаемость, среднюю продолжительность жизни (СПЖ) погибших животных. Степень угнетения и скорость пострадиационного восстановления гемопоэза исследовали в методике эндогенного колониеобразования по J. E. Till, E. A. McCulloch (1961).

Животные были распределены на следующие экспериментальные группы: облучение, КРХП, Б–190 + КРХП, Нафазолин + КРХП, Цистамин + КРХП, контроль.

Препарат Б-190 вводили внутривентрикулярно в виде 2,5% взвеси в 0,5%-ном геле картофельного крахмала в дозе 200 мг/кг за 15 мин до облучения. Цистамин применяли в дозе 225 мг/кг, растворенный в физиологическом растворе – внутрибрюшинно за 15 мин до облучения. Нафазолин – в физиологическом растворе в дозе 5 мг/кг внутрибрюшинно за 10 мин. После введения препаратов мышей подвергали последовательному воздействию рентгеновского облучения и монооксида углерода.

Статистическую обработку результатов осуществляли при помощи программы Statistica 10.0. Данные выживаемости представлены в виде среднего значения и средноквадратического отклонения ($\bar{X} \pm s_x$), СПЖ, количество колоний, в виде медианы и процентилей (Me [Q₂₅;Q₇₅]). Достоверность различий средних значений показателей выживаемости погибших животных оценивали с использованием точного критерия Фишера для таблиц сопряженности. При сравнении независимых групп и определении значимости межгрупповых различий использовали критерий Краскелла-Уоллиса, множественные попарные сравнения проводили с использованием критерия Ньюмена-Кейлса.

Вероятность $p \leq 0,05$ считали достаточной для вывода о статистической значимости различий полученных данных. При проведении исследований выполняли требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним.

Результаты. При наблюдении у животных после нанесения им комбинированного радиационно-химического поражения отмечали гибель в сроки, типичные для костномозгового синдрома острой лучевой болезни (ОЛБ). Статистически значимых различий по показателю СПЖ между группами не было.

При анализе выживаемости мышей отмечали, что при профилактическом введении радиопротекторов, механизм действия которых заключается в создании фармакологической гипоксии в радиочувствительных тканях (Б-190 и нафазолин), данный показатель значительно снижался. Вместе с тем, радиопротектор «концентрационного» типа, с механизмом действия отличным от вышеперечисленных (цистамин) способствовал значимому росту выживаемости (Рис.1).

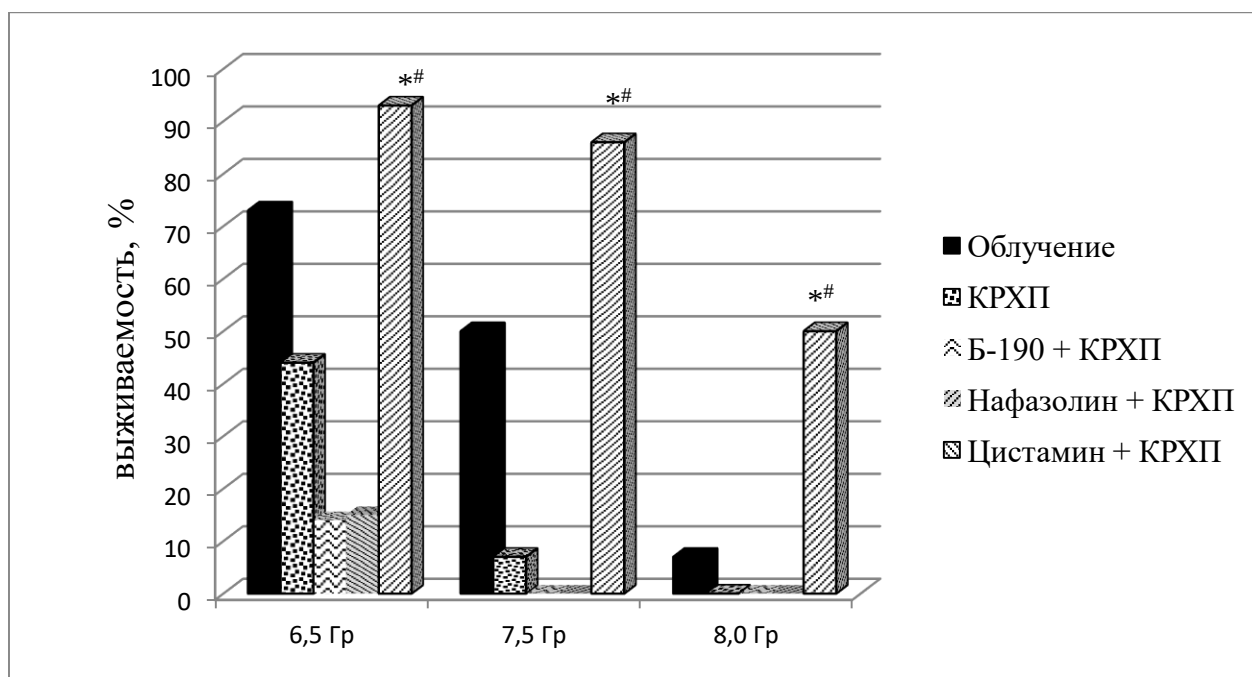


Рисунок 1. 30-суточная выживаемость белых беспородных мышей-самцов, с КРХП при профилактическом введении радиопротекторов.

Примечания: * различия значимы по сравнению с группой «КРХП», $p < 0,05$.

различия значимы по сравнению с группами «Б-190 + КРХП» и «Нафазолин + КРХП», $p < 0,05$.

При исследовании степени угнетения и скорости пострadiационного восстановления гемопоэза было установлено, что профилактическое применение Б-190 и нафазолина не приводило к увеличению количества эндогенных колоний, а при дозе облучения 7,5 Гр их было даже значимо меньше, чем у мышей, не получавших радиопротектор. Введение же цистамина сопровождалось значимым увеличением количества 9-ти суточных эндогенных колоний на селезенках. Во всем диапазоне доз облучения количество колоний в группе «Цистамин + КРХП» было значимо больше относительно всех остальных экспериментальных групп (Рис.2)

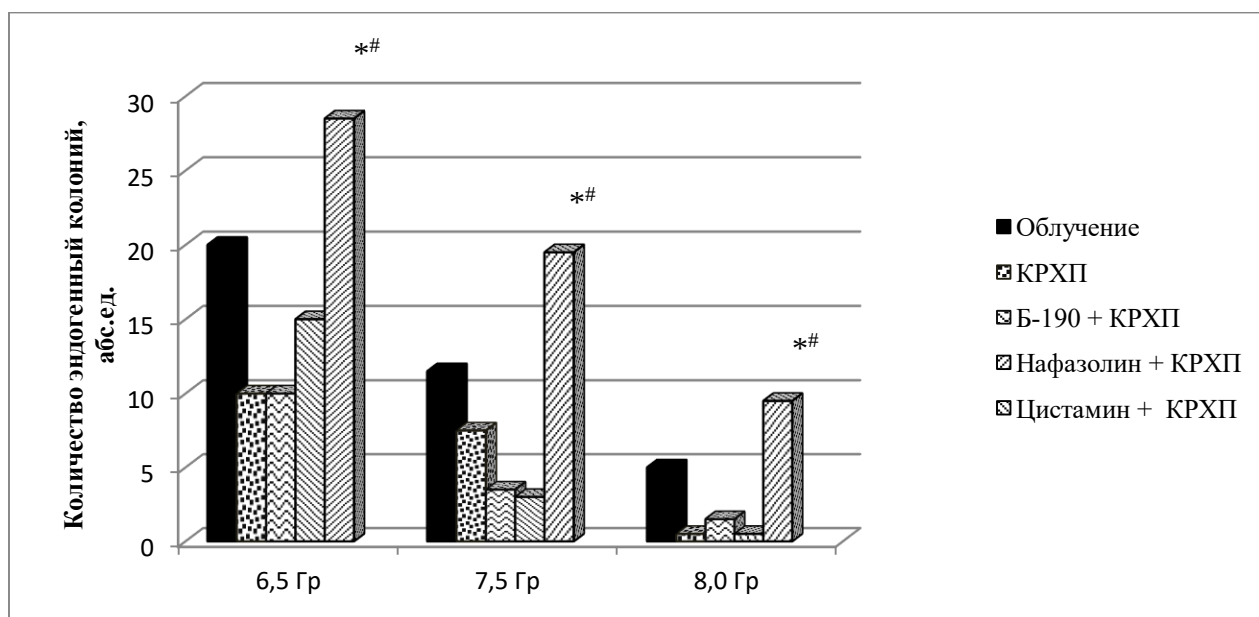


Рисунок 2. Количество эндогенных колоний на селезенках белых беспородных мышей-самцов, подвергнутых КРХП при профилактическом введении радиопротекторов.

Примечания: * различия значимы по сравнению с группой «КРХП», $p < 0,05$.

различия значимы по сравнению с группами «Б-190 + КРХП» и «Нафазолин + КРХП», $p < 0,05$.

Обсуждение. Большое количество пострадавших с комбинированными радиационными поражениями является особенностью структуры санитарных потерь при радиационных авариях и катастрофах [2, 4]. Перечисленные ситуации достаточно часто сопровождаются возникновением пожаров, что, в свою очередь определяет появление токсичных продуктов горения, которые обуславливают возникновение нелучевого компонента поражения. Один из таких факторов – монооксид углерода, который является неотъемлемым и доминирующим при горении и термодеструкции углеродсодержащих материалов.

В системе медицинской противорадиационной защиты одним из важнейших элементов является профилактическое применение радиопротекторов. В случае радиационно-механических и радиационно-термических поражений препарат Б-190 не снижает своих радиозащитных свойств, что доказано экспериментальными исследованиями [5].

В варианте же комбинированного радиационно-химического поражения, при котором в качестве нелучевого компонента выступает интоксикация монооксидом углерода, наблюдалась иная картина – введение радиопротекторов «гипоксического» действия не оказывало защитного эффекта, а при определенных дозах облучения – напротив, даже утяжеляло течение поражения. Данный эффект может быть объяснен тем, что при профилактическом применении Б-190 и нафазолина в дополнение к экзогенной гемической гипоксии присоединяется компонент гипоксии циркуляторной вследствие реализации механизма действия данного радиопротектора. Как следствие, развивающийся выраженный энергодефицит в тканях, в том числе и костном мозге, может приводить к затруднению репарации ДНК и увеличению доли гибнущих клеток. Вероятно, что снижение выживаемости клеток происходит за счет обеих форм пострадиационной гибели – как репродуктивной, вследствие грубых ошибок репарации ДНК в условиях энергодефицита, так и интерфазной в виде партанатоза, опосредованного энергетической катастрофой в клетке [6].

Вместе с тем, эффективность цистамина может быть объяснена его способностью кратковременно и обратимо ингибировать процессы репликации ДНК. В основе этих процессов лежит способность цистамина к образованию адсорбционных, тиоэфирных, амидных и дисульфидных связей с ферментами [7]. Связывание с ферментами в итоге приводит к ингибированию их каталитической активности, в том числе к торможению образования предшественников ДНК [8]. Таким образом, блокирование системы образования дезоксинуклеотидов в итоге вызывает задержку синтеза ДНК. Причем, максимальное ингибирование тиольными радиопротекторами отмечается через 30–90 мин после проявления радиозащитного эффекта – то есть, именно в период максимально выраженного энергодефицита вследствие интоксикации монооксидом углерода применительно к выбранной модели поражения. Данные процессы, с одной стороны, позволяют снизить потребление энергии в первые минуты-десятки минут после облучения (время, приходящееся на интоксикацию СО и максимально выраженный энергодефицит), а с другой – облегчают последующую репарацию ДНК.

Список литературы

1. Романович И. К., Барковский А. Н., Степанов В. С. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации при возникновении радиационных аварий и инцидентов // Актуальные вопросы организации контроля и надзора за физическими факторами. М. – 2017. – С. 347-350.
2. Комбинированные радиационные поражения – патогенез, клиника, лечение / Под ред. А.Ф. Цыба, М.Н. Фаршатова. – М.: Медицина, 1992. – 320 с.
3. Гладких В. Д., Белых В.Г., Тимошевский А.А., Чиж И.М. Специальные средства медицинской противохимической и противорадиационной защиты: современное состояние и перспективы развития // Военно-медицинский журнал. – 2018. – Т. 339. – №. 1. – С. 29-36.
4. Легеза В.И, Гребенюк А.Н., Бояринцев В.В. Комбинированные радиационные поражения и их компоненты. СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2015. – 216 с.
5. DiCarlo A.L., Maher C., J.L. Hick, D. Hanfling Radiation injury after a nuclear detonation: medical consequences and the need for scarce resources allocation // Disaster medicine and public health preparedness. – 2011. – Vol. 5, №. S1. – P. S32-S44.
6. Грехова А.К., Пустовалова М.В., Еремин П.С. Оценка вклада гомологической рекомбинации в репарацию двунитевых разрывов ДНК в фибробластах человека после воздействия рентгеновского излучения в малой и средних // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2018. – Т. 58. – №. 6. – С. 589-596.
7. Деев Р.В., Билялов А.И., Жампеисов Т.М. Современные представления о клеточной гибели // Гены и клетки. – 2018. – Т. 13. – №. 1.– С. 6-19.
8. Васин М.В. Противолучевые лекарственные средства // М.: ГИУВ МО РФ. – 2010. – 180 с.